



⑮ **BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT**

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 197 55 479 A 1**

⑤① Int. Cl.⁶:
C 12 M 1/40
C 12 M 1/34

②① Aktenzeichen: 197 55 479.2
②② Anmeldetag: 13. 12. 97
④③ Offenlegungstag: 17. 6. 99

DE 197 55 479 A 1

⑦① **Anmelder:**
Benecke, Wolfgang, Prof. Dr.-Ing., 27412 Vorwerk,
DE; Binder, Josef, Prof. Dr.rer.nat., 27726
Worpswede, DE

⑦④ **Vertreter:**
Eisenführ, Speiser & Partner, 28195 Bremen

⑦② **Erfinder:**
Benecke, Wolfgang, Prof. Dr.-Ing., 27412 Vorwerk,
DE; Binder, Josef, Prof. Dr.rer.nat., 27726
Worpswede, DE; Dobrinski, Heiko, 28359 Bremen,
DE; Lichtenberg, Jan, 28357 Bremen, DE; Meckes,
Andreas, Dipl.-Phys., 28215 Bremen, DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

- ⑤④ **Miniaturisiertes PCR-System zur Genanalyse**
⑤⑦ Um DNA-Amplifizierungen mittels der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) sowie nachfolgende Analyseschritte in wenigen Minuten durchzuführen, wird eine mikrosystemtechnische Vorrichtung angegeben, welche einen ersten Wafer und einen mit dem ersten Wafer sandwichartig verbundenen zweiten Wafer und eine Reaktionskammer zwischen den Wafern aufweist, deren Volumen geringer als 1 µl betragen kann. Des weiteren sind mindestens ein in die Reaktionskammer mündender, eintragender Kanal und ein von der Reaktionskammer abgehender, austragender Kanal sowie eine Heizvorrichtung zum Aufheizen und eine Kühlvorrichtung zum Abkühlen der Reaktionskammer vorgesehen. Kurze PCR-Zykluszeiten im Bereich von wenigen Minuten werden erfindungsgemäß dadurch ermöglicht, daß der erste und/oder der zweite Wafer im Bereich der Reaktionskammer eine Aussparung auf seiner Außenseite aufweist. Des weiteren wird zur schnelleren Durchführung von vorbereitenden Schritten zur Analyse amplifizierter DNA-Moleküle eine mikrosystemtechnische Vorrichtung mit zwei sandwichartig verbundenen ersten und zweiten Wafern und mit einer PCR-Reaktionskammer zur DNA-Amplifizierung zwischen den Wafern angegeben, welche erfindungsgemäß eine mit der Reaktionskammer verbundene Reinigungskammer zwischen den beiden Wafern zur Aufreinigung der amplifizierten DNA-Moleküle aufweist.

DE 197 55 479 A 1

Die Erfindung betrifft eine mikrosystemtechnische Vorrichtung zur DNA-Amplifizierung mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR), mit einem ersten Wafer und einem mit dem ersten Wafer sandwichartig verbundenen zweiten Wafer, einer Reaktionskammer zwischen den Wafers, mindestens einem in die Reaktionskammer mündenden, eintragenden Kanal und einem von der Reaktionskammer abgehenden, austragenden Kanal, und einer Heizvorrichtung zum Aufheizen und einer Kühlvorrichtung zum Abkühlen der Reaktionskammer.

Derartige Vorrichtungen zur Vervielfältigung eines spezifischen DNA-Abschnitts zwischen zwei definierten Nukleotid-Paaren eines Gens mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (polymerase chain reaction, PCR) sind bekannt. Die PCR wird seit Mitte der 80er Jahre zunehmend eingesetzt bei der Erkennung von genetisch bedingten Krankheiten, zu Forschungszwecken oder zur Identifizierung von Mikroorganismen. Hierzu wird bekanntermaßen die in wässriger Lösung vorliegende Ausgangs-DNA mit dem zu vervielfältigenden DNA-Abschnitt in eine Reaktionskammer eingebracht. Durch Erhitzen der Probenlösung in der Reaktionskammer auf ca. 95°C spaltet sich die doppelstrangige DNA-Helix in zwei Einzelstränge auf. Nach diesem sog. Denaturieren kann an einem Ende des zu amplifizierenden DNA-Abschnitts des einen Einzelstrangs ein künstlich synthetisiertes und der wässrigen Lösung in hinreichender Menge zugesetztes, spezifisches DNA-Stück geringer Basenzahl (sog. Primer) binden. An dem anderen Ende des zu amplifizierenden DNA-Abschnitts des komplementären Einzelstrangs bindet ein anderer spezifischer Primer. Der Ort der Bindung der beiden Primer begrenzt den zu amplifizierenden DNA-Abschnitt. Diese sog. Hybridisierung läuft optimal bei Temperaturen von ungefähr 45°C ab, d. h., daß das Probenvolumen nach Auftrennen des DNA-Stoppelstranges abkühlen muß. An den nun vorliegenden beiden Einzelsträngen mit ihren jeweiligen gebundenen Primern werden mit Hilfe eines anfänglich zugesetzten, hitzestabilen Enzyms, der sog. Taq-Polymerase, nacheinander – beginnend bei den einander zugewandten Primer-Enden – gleichfalls zu Beginn zugegebene Nukleotide angefügt. Dieser als Synthese bezeichnete Vorgang läuft am schnellsten bei etwa 72°C ab, weshalb das Probenvolumen in der Reaktionskammer nach der Hybridisierung der Primer wieder erwärmt werden muß. Am Ende dieses Zyklus erhält man somit zwei doppelstrangige DNA-Moleküle, welche beide den zu vervielfältigenden DNA-Abschnitt aufweisen. Wird der aus Denaturieren, Hybridisieren und Synthetisieren bestehende und den DNA-Abschnitt jeweils verdoppelnde Zyklus mehrmals hintereinander ausgeführt, erhält man bei einer standardmäßigen Zykluszahl von 30 eine annähernd milliardenfache Kopienzahl des zu amplifizierenden DNA-Abschnitts. Diese reicht aus, um anschließend bekannte Analyseverfahren anwenden zu können. Während einige dieser Analysereaktionen in wenigen Minuten ablaufen und ausgewertet werden können, dauert die in den meisten bekannten Vorrichtungen durchgeführte PCR einige Stunden und limitiert zeitlich den Durchsatz durch die Vorrichtungen.

Aufgrund der Vielseitigkeit der PCR – zu nennen sind hier insbesondere die Multiplex-PCR und insbesondere das sog. Fingerprinting-Verfahren – sind in letzter Zeit Versuche bekannt geworden, mit Hilfe mikrosystemtechnischer Vorrichtungen die Zykluszeiten auf wenige Minuten zu reduzieren, um hierdurch schnelle Gen-Analysen, beispielsweise während Operationen, zu ermöglichen. Besonderes Augenmerk gilt bekanntermaßen mikrosystemtechnischen Vorrichtungen und hierbei insbesondere der Reduzierung des

Probekammervolumens, da dann die Aufheiz- und Abkühlzeiten der Probenlösung nur noch wenige Sekunden betragen müssen. Dies ist ausreichend, damit die drei verschiedenen Reaktionen innerhalb eines PCR-Zyklus ablaufen. So ist beispielsweise eine Vorrichtung bekannt, bei der zwei Wafer übereinander angeordnet sind, zwischen denen eine Reaktionskammer durch eine Aussparung auf der Innenseite eines aus einem Halbleitermaterial bestehenden Wafers ausgebildet ist. Der andere, die Aussparung abdeckende Wafer umfaßt bei dieser bekannten Vorrichtung einen Heizelement.

Nachteilig bei dieser bekannten Vorrichtung sind insbesondere deren verhältnismäßig ungünstigen thermischen Eigenschaften. Da nämlich zur Reduzierung der Zykluszeiten das Volumen der Reaktionskammer möglichst klein gewählt ist, ist die Tiefe der Aussparung im Vergleich zu der üblicherweise standardisierten Gesamtdicke des Wafers verhältnismäßig gering. Dies wiederum bedeutet, daß über die raumgreifenden Umgebungsabschnitte der Reaktionskammer Wärme abfließt, welche nicht zur Erwärmung/Abkühlung der Probenlösung zur Verfügung steht. Die verhältnismäßig große thermische Masse der Umgebungsabschnitte der Reaktionskammer resultiert somit in ungünstig langen Aufheiz- und Abkühlzeiten des Probenvolumens.

Weiterhin ist bei dieser bekannten Vorrichtung nachteilig, daß die anschließende Analyse der amplifizierten DNA nicht in allen Fällen sofort durchgeführt werden kann, da je nach Analyseverfahren die in der Reaktionskammer amplifizierte DNA gegebenenfalls von den restlichen Substanzen (u. a. Puffer, überschüssigen Primer und Nukleotide, Taq-Polymerase, Aktivatoren) getrennt werden muß. Beispielsweise erfordert die bekannte Matrix-unterstützte Flugzeit-massenspektrometrie (MALDI-TOF-MS: matrix assisted laser desorption time of flight mass spectrometry) eine relativ hoch konzentrierte DNA-Lösung. Der Zwischenschritt der Aufreinigung ist wegen des Transportes der DNA-Moleküle von der Reaktionskammer zur Reinigungsvorrichtung jedoch relativ schwierig durchzuführen.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es daher, die mikrosystemtechnische Vorrichtung der eingangs genannten Art derart weiterzubilden, daß auf einfache Weise der Zeitraum vom Beginn einer PCR bis zur DNA-Analyse reduziert werden kann.

Diese Aufgabe wird bei der mikrosystemtechnischen Vorrichtung der eingangs genannten Art erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß der erste und/oder der zweite Wafer im Bereich der Reaktionskammer eine Aussparung auf seiner Außenseite aufweist.

Desweiteren wird die Erfindung bei der mikrosystemtechnischen Vorrichtung der eingangs genannten Art gelöst durch eine Reinigungskammer zwischen den beiden Wafers zur Aufreinigung der amplifizierten DNA-Moleküle, mindestens einen in die Reinigungskammer mündenden, eintragenden Kanal, der mit einem austragenden Kanal der Reaktionskammer verbunden ist, und mindestens einen von der Reinigungskammer abgehenden, austragenden Kanal.

Die Vorteile der erfindungsgemäßen Reaktionskammer liegen insbesondere darin, daß einer oder beide Wafer eine Aussparung auf der Außenseite aufweisen, die im Bereich der Reaktionskammer angeordnet ist. Die Tiefe der Aussparung auf der Außenseite des oder der Wafer bestimmt die Waferdicke zwischen der Reaktionskammer und der äußeren Aussparung. Bei einer erwünschtermaßen kleinvolumigen und dementsprechend flachen Reaktionskammer kann die Aussparung auf der Waferaußenseite derart tief ausgebildet sein, daß der bzw. die Wafer im Bereich der Reaktionskammer eine sehr geringe Dicke aufweisen. Hierdurch wird die thermische Masse dieser Waferabschnitte sehr

klein, da nur über schmale Raumbücken Kontakt mit den entfernten Waferabschnitten besteht und somit während der Aufheiz- und Abkühlphasen nur geringfügig Wärme an diese abgeleitet wird. Die Wärmekapazität der der Reaktionskammer benachbarten Waferabschnitte wird somit erfindungsgemäß reduziert und es resultieren schnellere Temperaturanstiege sowie -abfälle in der Reaktionskammer, wenn die Reaktionskammer aufgeheizt oder abgekühlt wird. Hierdurch lassen sich PCR-Zykluszeiten von weniger als fünf Sekunden bei einem Kammervolumen von ungefähr 1 µl realisieren, so daß eine PCR mit 30 Zyklen in weniger als drei Minuten durchgeführt werden kann.

Die Vorteile der zusammen mit der Reaktionskammer zwischen zwei Wafern integrierten Reinigungskammer sind insbesondere darin zu sehen, daß die amplifizierten DNA-Moleküle direkt im Anschluß an die PCR über einen Verbindungskanal zur Reinigungskammer geleitet werden kann, in welcher die amplifizierte DNA aufgereinigt wird. Am Ausgang der Reinigungskammer wird somit aufgereinigte DNA erhalten, die lediglich noch in einer Analysevorrichtung eingebracht werden muß. Insbesondere bei der Multiplex-PCR, bei der gleichzeitig verschiedene Primerpaare zur Amplifizierung verschiedener DNA-Abschnitte der Reaktionslösung zugegeben werden, beschleunigt die erfindungsgemäße Integration von Reaktionskammer und Reinigungskammer zwischen zwei Wafern die massenspektrometrische Analyse mit bspw. dem MALDI-Verfahren, die – im Gegensatz zu einer Gelelektrophorese – den Vorteil besitzt, daß DNA-Fragmente sehr unterschiedlicher Größe gleichzeitig bestimmbar sind.

Zur Herstellung der erfindungsgemäßen Vorrichtung sind herkömmliche naß- und trockenchemische Ätzverfahren sowie bekannte photolithographische Methoden einsetzbar. Desweiteren besteht die vorteilhafte Möglichkeit, das sog. Batchverfahren anzuwenden, bei dem die Strukturen des ersten und des zweiten Wafers jeweils gleichzeitig in hoher Anzahl auf großen Waferscheiben hergestellt werden können. Die anschließend aneinandergefügt großen Waferscheiben brauchen dann nur noch geringfügig bearbeitet zu werden, um zahlreiche erfindungsgemäße Vorrichtungen zu erhalten.

Besonders bevorzugt ist der Hohlraum der erfindungsgemäßen Reaktionskammer durch innenseitige Aussparungen in dem ersten und/oder zweiten Wafer gebildet. In ähnlicher Weise sind innenseitige Aussparungen in dem ersten und/oder zweiten Wafer zur Bildung von zur Reaktionskammer hinführenden und ggf. von der Reaktionskammer fortführenden Kanälen vorgesehen.

Um eine möglichst gleichmäßige Erwärmung bzw. Abkühlung des Probenvolumens in der Reaktionskammer zu erhalten, erstreckt sich in einer besonders bevorzugten Ausführungsform die äußere Aussparung im wesentlichen über die gesamte zur Außenseite projizierte Fläche der Reaktionskammer.

Besonders bevorzugt weist die Reaktionskammer eine im wesentlichen längliche Form auf, um ein Vermischen der PCR-Produkte beim Herausspülen mit einer Spüllösung, wie beispielsweise Wasser, zu vermeiden. Die PCR-Produkte werden hierbei von der nachfließenden Spüllösung aus der Reaktionskammer gepreßt und liegen demnach an deren Ausgang im wesentlichen in unverdünnter Form vor.

Bevorzugt umfaßt die zur Aufheizung des Probenvolumens benötigte Heizvorrichtung mindestens einen elektrisch isolierten Heizleiter in der Reaktionskammer. Beispielsweise ist der Heizleiter über die gesamte zur Außenseite projizierte Fläche der Reaktionskammer in Form eines Mäanders angeordnet, um die Lösung in der Reaktionskammer möglichst gleichmäßig und schnell zu erwärmen.

Bei dieser Ausführungsform befindet sich die zu erwärmende Lösung vorteilhafterweise – im Vergleich zu einer auf der Waferaußenseite angeordneten Heizvorrichtung – in unmittelbarer Nähe des Heizleiters. Hierdurch wird eine zeitaufwendige indirekte Erwärmung der Probenlösung aufgrund einer zuvor notwendigen Erwärmung des Wafers vermieden.

Wenn der dem Heizleiter benachbarte Wafer aus einem Halbleitermaterial hergestellt ist, ist der Heizleiter zur Vermeidung von Kurzschlüssen bevorzugt in eine elektrisch isolierenden Schicht in der Reaktionskammer eingebettet, um auf diese Weise den Heizleiter gegen das Halbleitermaterial und die leitfähige PCR-Lösung zu isolieren. Zur Realisierung kann auf bekannte Mikrostrukturverfahren zurückgegriffen werden.

Eine schnelle Abkühlung der Probenlösung in der Reaktionskammer kann erzielt werden, wenn die Kühlvorrichtung mindestens eine Düse umfaßt, welche auf die äußere Waferoberfläche im Bereich der Aussparung gerichtet ist, um über Konvektion Wärme abzutransportieren. Vorteilhafterweise ist eine Düse auf den dem Heizleiter benachbarten Waferabschnitt gerichtet, damit nach Unterbrechen des Heizstroms die Restwärme des Heizleiters schnell abgeführt werden kann.

In einer bevorzugten Weiterbildung der Erfindung sind Kühlrippen in der bzw. den Aussparungen auf den Waferaußenseiten angeordnet, welche eine verhältnismäßig große Fläche zur Unterstützung der Konvektionskühlung aufweisen.

Besonders bevorzugt sind stromaufwärts der Reaktionskammer mehrere Kanäle zwischen den beiden Wafern angeordnet, die der Zuführung von DNA-Lösungen, Reaktionslösungen und/oder Spüllösungen dienen. Hierdurch können die Konzentrationen sowie die zeitliche Abfolge der Zufuhr der einzelnen Lösungen eingestellt werden.

Vorteilhafterweise werden die von mindestens zwei Kanälen zugeführten Reaktionslösungen vor Eintritt in die Reaktionskammer durch eine Mischvorrichtung geleitet, damit die Reaktion der Moleküle der verschiedenen Flüssigkeiten in der Reaktionskammer beschleunigt wird.

Besonders bevorzugt sind pneumatisch betriebene Ventile und/oder Pumpen in der Anordnung der beiden Wafer integriert, die zur Durchlaßregulierung der Kanäle dienen. Die Integration der vorzugsweise einzeln ansteuerbaren Ventile in die Waferanordnung trägt bei gleichzeitig einfacher Handhabbarkeit zur Miniaturisierung der erfindungsgemäßen Vorrichtung bei.

Eine besonders bevorzugte Ausführungsform sieht vor, daß die inneren Oberflächen der Reaktionskammer sowie ggf. der Kanäle zur Vermeidung von Wechselwirkungen mit in den Lösungen suspendierten Molekülen chemisch inertisiert sind. Auf diese Weise wird gewährleistet, daß die PCR nicht durch Reaktionen an den inneren Oberflächen der Reaktionskammer gestört wird. Beispielsweise sind die Kammeroberflächen mit an sich bekannten Beschichtungen – beispielsweise organischen Molekülen – versehen.

Der Hohlraum der erfindungsgemäß gemeinsam mit der Reaktionskammer zwischen zwei Wafern integrierten Reinigungskammer ist bevorzugt durch innenseitige Aussparungen in dem ersten und/oder zweiten Wafer gebildet. In ähnlicher Weise sind innenseitige Aussparungen in dem ersten und/oder zweiten Wafer zur Bildung von zur Reinigungskammer hinführenden und ggf. von der Reinigungskammer fortführenden Kanälen vorgesehen.

Die in der Reaktionskammer amplifizierten DNA-Moleküle sind nach Transport zur Reinigungskammer mittels einer an sich bekannten Separationstechnik aufreinigbar. Es bietet sich z. B. an, an die bei der PCR eingesetzten Primer-

Moleküle vorweg jeweils ein Biotin- oder Avidin-Molekül anzulagern, so daß am Ende der PCR jedes amplifizierte DNA-Molekül eine Biotin- bzw. Avidin-Gruppe aufweist. Bei Einsatz dieses Verfahrens weist die erfindungsgemäße Vorrichtung vorzugsweise einen stromaufwärts der Reinigungskammer angeordneten Kanal zur Zuführung einer Suspension magnetischer Partikel auf, an welche jeweils mindestens eine Streptavidin-Gruppe angelagert ist. In der Reinigungskammer können dann die Streptavidin-Gruppen der magnetischen Partikel an die Biotin- oder Avidin-Gruppen der Primersequenzen der DNA-Moleküle unter Bildung eines verhältnismäßig großen, magnetischen Komplexes binden.

Zur Separation von den übrigen, während der PCR benötigten Molekülen ist mindestens ein Magnet im Bereich der Reinigungskammer vorgesehen, welcher die magnetischen Komplexe aufgrund magnetischer Anziehung in der Reinigungskammer immobilisiert, während die übrigen Moleküle mit der Lösung aus der Reinigungskammer ausgetragen werden.

In einer alternativen Ausführungsform zur Abtrennung bzw. Aufreinigung der amplifizierten DNA-Moleküle sind die Oberflächen der Reinigungskammer mit Streptavidin-Gruppen belegt, an welche die Biotin- oder Avidin-Gruppen der Primersequenzen der amplifizierten DNA-Moleküle binden. In diesem Fall werden die DNA-Moleküle von den übrigen Molekülen in der Lösung auf rein chemischem Wege – ohne Verwendung von extern angelegten äußeren Feldern – getrennt.

Um die an den Streptavidin-Gruppen der magnetischen Partikel bzw. den Oberflächen der Reinigungskammer anhaftenden DNA-Moleküle abzutrennen, ist stromaufwärts der Reinigungskammer ein Kanal zur Zuführung einer Elutionslösung- bzw. -puffer vorgesehen, in der sich die immobilisierten DNA-Moleküle – ggf. nach Abschaltung des magnetischen Feldes – lösen, um anschließend aus der Reinigungskammer ausgetragen zu werden.

Besonders bevorzugt weist eine Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung eine Heizvorrichtung in der Reinigungskammer auf, welche vorteilhafterweise im wesentlichen denselben Aufbau wie die oben beschriebene Heizvorrichtung der Reaktionskammer besitzt. Die Heizvorrichtung sorgt für eine optimale Temperatur in der Reinigungskammer, bei welcher die magnetischen Partikel mit erhöhter Reaktionsgeschwindigkeit bevorzugt an den DNA-Molekülen binden und gleichzeitig die Zahl unspezifischer Bindungen reduziert wird. Auch kann eine Kühlvorrichtung im Bereich der Reinigungskammer vorgesehen sein, welche im wesentlichen der oben beschriebenen Kühlvorrichtung für die Reaktionskammer entspricht. Zur Durchlaßregulierung der Kanäle bietet es sich weiterhin an, pneumatisch betriebene Ventile und/oder Pumpen zur Zuführung bzw. Ableitung von Lösungen zur bzw. aus der Reinigungskammer zu verwenden.

Vorteilhafterweise weist der erste und/oder der zweite Wafer im Bereich der Reinigungskammer eine Aussparung auf seiner Außenseite auf, da hierdurch – wie im Falle der Aussparung(en) im Bereich der Reaktionskammer – eine schnelle Ruffheizung der Probenlösung in der Reinigungskammer begünstigt wird. Die Aussparung im Bereich der Reinigungskammer reduziert hierbei ebenfalls den Wärmeabfluß in entferntere Waferabschnitte.

Besonders bevorzugt ist eine piezoelektrische Pumpe in einem austragenden Kanal der Reinigungskammer angeordnet, mit welcher genau definierte Tropfen der in der Elutionslösung gelösten amplifizierten DNA-Moleküle in konzentrierter Form auf eine verhältnismäßig kleine Fläche auftragbar sind. Dies ist besonders bei einer Analyse der ampli-

fizierten DNA – ggf. mit den an den DNA-Molekülen noch gebundenen magnetischen Partikeln – mittels des MALDI-Verfahrens vorteilhaft, da hierfür eine kleine, möglichst gleichmäßig mit zu analysierenden Probenmolekülen bedeckte Schicht vorteilhaft ist. Demnach kann mit Hilfe der piezoelektrischen Pumpe das zur Massenspektrometrie benötigte Probenvolumen und damit ggf. die Menge an benötigter Ausgangs-DNA bzw. die Anzahl der durchzuführenden PCR-Zyklen reduziert werden.

Laufen zwei Kanäle zusammen, welche nacheinander verschiedene Lösungen in einen gemeinsamen Kanal leiten, ist es wünschenswert, daß möglichst geringe Totvolumina in den Kanalarmen entstehen, welche zu Kontaminationen aufgrund von beispielsweise Ablagerungen führen könnten. Insbesondere soll eine in dieser Hinsicht kritische Flüssigkeit, welche über einen ersten Kanal zugeführt wird, effektiv von einer anschließend über einen zweiten Kanal zugeführten Spüllösung möglichst vollständig mitgenommen werden, ohne daß Teile der kritischen Flüssigkeit im Kanalsystem zurückbleiben. Zu diesem Zweck wird eine mikrosystemtechnische Vorrichtung mit einem ersten Wafer und einem mit dem ersten Wafer sandwichartig verbundenen zweiten Wafer, sowie mit innenseitigen Aussparungen in dem ersten und/oder zweiten Wafer zur Bildung von Kanälen zwischen den beiden Wafers vorgeschlagen. Erfindungsgemäß ist mindestens ein Ventil im Bereich des Zusammenlaufs eines ersten Kanals und eines zweiten Kanals zu einem dritten Kanal vorgesehen. Das Ventil enthält eine als flexible Schicht des ersten oder zweiten Wafers ausgebildete Membran, die einen flexiblen Umfangsabschnitt der Wandung des ersten Kanals bildet, wobei sich der flexible Umfangsabschnitt in Schließstellung des Ventils gegen einen gegenüberliegenden festen Umfangsabschnitt der Wandung des ersten Kanals anlegt und sich in Offenstellung des Ventils von dem festen Umfangsabschnitt abhebt.

Wird Flüssigkeit durch den ersten Kanal zum offenen Ventil geleitet, strömt diese zwischen der einen flexiblen Umfangsabschnitt des ersten Kanals bildenden Membran und dem festen Umfangsabschnitt in den dritten Kanal und damit auch in den zweiten Kanal, der in unmittelbarer Nähe zum Ventil in den dritten Kanal mündet. Bei Schließen des Ventils legt sich die flexible Membran dichtend an den festen Umfangsabschnitt des ersten Kanals an und unterbindet den Flüssigkeitsstrom. Wird nach Schließen des Ventils Spüllösung über den zweiten Kanal zugeführt, nimmt die Spüllösung Flüssigkeit in den dritten Kanal mit, welche zuvor bei offenem Ventil in den zweiten Kanal geströmt ist bzw. sich noch im Bereich des nun geschlossenen Ventils aufhält. Mittels dieser Anordnung entstehen während des Spülvorgangs keine toten Arme für die Flüssigkeit und es wird auf einfache Weise ein Ablagern von kritischen Flüssigkeitsbestandteilen vermieden.

Besonders bevorzugt weist der feste Umfangsabschnitt eine Erhebung des ersten oder zweiten Wafers zwischen den Aussparungen für den ersten Kanal einerseits und für den zweiten und dritten Kanal andererseits auf, an welcher die Membran in Schließstellung des Ventils dichtend zur Anlage kommt. Eine solche Erhebung kann in einfacher Weise durch Aufbringen entsprechender Masken während der Ätzprozessschritte erhalten werden.

Vorteilhafterweise ist ein Druckraum auf der kanalabgewandten Seite der Membran vorgesehen. Wird der Druckraum mit positivem Druck beaufschlagt, legt sich die Membran an den festen Umfangsabschnitt. Wenn hingegen ein Unterdruck im Druckraum erzeugt wird, hebt sich die Membran vom festen Umfangsabschnitt ab und gibt den Fluß vom ersten Kanal in den dritten und auch in den zweiten Kanal frei.

Bevorzugt deckt eine Deckfolie den Druckraum auf der der Membran gegenüberliegenden Seite ab. Die Deckfolie weist vorteilhafterweise eine Öffnung zum Anschluß einer Saug- und/oder Druckpumpe auf. Alternativ ist der Druckraum mit einer durchgehenden elastischen Folie abgedeckt und kann mittels eines externen – beispielsweise mechanischem – Druckstoßes auf die elastische Folie mit Druck beaufschlagt werden.

Vorteilhafte Weiterbildungen der Erfindung sind durch die Merkmale der Unteransprüche gekennzeichnet.

Im folgenden wird eine Ausführungsform der Erfindung anhand der Zeichnungen näher erläutert. Es zeigen:

Fig. 1 eine schematische Darstellung einer mikrosystemtechnischen Vorrichtung mit einer Reaktionskammer und einer Reinigungskammer sowie verschiedenen Kanälen;

Fig. 2 eine Aufsicht auf eine Ausführungsform der Vorrichtung gemäß dem Schema der **Fig. 1** mit erweitertem Kanalsystem;

Fig. 3 einen Querschnitt entlang der Linie A-A durch die Waferanordnung der **Fig. 2**;

Fig. 4 eine vergrößerte Darstellung des Ventils der **Fig. 3** in Schließstellung;

Fig. 5 eine vergrößerte Darstellung des Ventils der **Fig. 3** in Offenstellung;

Fig. 6 ein Ventil im Bereich zweier zulaufender Kanäle und eines ablaufenden Kanals in Schließstellung; und

Fig. 7 das Ventil gemäß der **Fig. 6** in Offenstellung.

In **Fig. 1** ist schematisch eine mikrosystemtechnische Vorrichtung **1** mit einer Reaktionskammer **6** zur Durchführung einer PCR und einer Reinigungskammer **8** zur Aufreinigung der während der PCR amplifizierten DNA-Molekülen dargestellt. Wie aus **Fig. 3** hervorgeht, sind die beiden Kammern **6**, **8** zwischen einem ersten Wafer **2** und einem zweiten Wafer **4** angeordnet, die mittels bekannter Klebe- oder Schweißverfahren, wie z. B. dem sog. Waferbonding, flächig miteinander verbunden sind. Die beiden Wafer **2**, **4** sind aus einem Halbleitermaterial wie beispielsweise Silizium gefertigt. Alternativ können z. B. auch Glas oder Polymererkunststoffe oder sonstige geeignete Kunststoffe verwendet werden.

Wie weiterhin der **Fig. 1** zu entnehmen ist, führt ein eintragender Kanal **40** zur Reaktionskammer **6**. Stromaufwärts münden zwei weitere Kanäle **46**, **49** in den Kanal **40**, die jeweils Einlaßöffnungen **56**, **59** zur Zuführung von Ausgangs-DNA, anderer zur PCR notwendiger Reagenzien sowie Spüllösungen aufweisen. Am Knoten der Kanäle **46**, **49** und **40** ist ein Ventil **50** zur Durchlaßregulierung angeordnet.

Von der Reaktionskammer **6** geht ein austragender Kanal **42** ab, der über ein Ventil **60** mit einem in die Reinigungskammer **8** mündenden, eintragenden Kanal **70** verbunden ist. In der Reinigungskammer **8** werden die in der Reaktionskammer **6** amplifizierten, noch in der Reaktionslösung suspendierten DNA-Moleküle von den übrigen Molekülen der Reaktionslösung getrennt. Hierzu mündet ein weiterer eintragender Kanal **71** in die Reinigungskammer **8**, in welchen stromaufwärts zwei weitere, über ein Ventil **80** kontrollierte Kanäle **76**, **77** münden, denen über Einlaßöffnungen Reinigungs-, Elutions- sowie ggf. Spüllösungen zuführbar sind. Ein austragender, ventilkontrollierter Kanal **72** führt von der Reinigungskammer **8** zu einer Auslaßöffnung **99** der Vorrichtung **1**.

Die Hohlräume der länglichen, paarweise parallele Innenwände aufweisenden Reaktionskammer **6** sowie der im wesentlichen in der Aufsicht rechteckförmigen Reinigungskammer **8** sind durch Aussparungen auf der Innenseite des oberen, ersten Wafers **2** und des unteren, zweiten Wafers **4** (jeweils bezogen auf **Fig. 3**) gebildet. Die Hohlräume der eintragenden bzw. austragenden Kanäle **40**, **42**, **70**, **72** – so-

wie der übrigen Kanäle – sind in der dargestellten Ausführungsform durch innenseitige Aussparungen in dem zweiten Wafer **4** gebildet (s. **Fig. 3**).

Wie insbesondere aus der **Fig. 3** hervorgeht, ist auf der Außenseite der beiden Wafer **2**, **4** im Bereich der Reaktionskammer **6** jeweils eine Aussparung **10**, **12** vorgesehen, welche zueinander spiegelsymmetrisch zu einer im wesentlichen durch die Grenzfläche beider Wafer **2**, **4** verlaufenden Ebene ausgebildet sind. Die beiden äußeren Aussparungen **10**, **12** verjüngen sich sowohl längsseitig als auch stirnseitig zur Reaktionskammer **6** hin und erstrecken sich im Bereich der Reaktionskammer **6** über deren gesamte zur Außenseite projizierte Fläche. Die Waferdicke in diesem Bereich ist im Vergleich zu den benachbarten Waferabschnitten sehr gering, um den Wärmeabfluß zu diesen Abschnitten klein zu halten. Das Profil der Reaktionskammer **6** kann je nach verwendeter Ätztechnik alternativ auch andere Formen aufweisen.

Im oberen Bereich der Reaktionskammer **6** (bezogen **Fig. 3**) ist ein Heizleiter **23** aus beispielsweise Aluminium in einer elektrisch isolierenden Schicht **20** aus beispielsweise Siliziumdioxid eingebettet. Der Heizleiter **23** verläuft mäanderförmig von einer Stirnseite der Reaktionskammer **6** zur anderen und ist an seinen beiden freien Enden jeweils über z. B. auf den Wafer aufgedampfte Verbindungsleitungen **25** zu Anschlußkontakten **24** geführt (**Fig. 2**).

Eine Düse **36** im Bereich der Aussparung **10** des ersten Wafers **2** ist auf die Waferoberfläche im Bereich der Reaktionskammer **6** gerichtet und dient zur Konvektionskühlung einer in der Reaktionskammer **6** befindlichen Probenlösung. In der Aussparung **10** sind hintereinander konstant beabstandete Kühlrippen **37** über die gesamte Länge der Reaktionskammer **6** zur Unterstützung des Konvektionsprozesses angeordnet.

Am linken Bildrand der **Fig. 3** ist die Einlaßöffnung **56** des in den Kanal **40** mündenden Kanals **46** dargestellt. Die Einlaßöffnung **56** – wie ggf. auch die übrigen Einlaßöffnungen – ist beispielsweise als pyramidenförmige Durchbrechung im ersten Wafer **2** ausgebildet, deren zulaufendes Ende rechtwinklig auf den Kanal **46** trifft. Die Außenseite der Durchbrechung ist mit einer Deckfolie **94** aus beispielsweise Kunststoff abgedeckt, welche eine Öffnung **96** zum Anschließen eines Versorgungsschlauches (nicht dargestellt) aufweist.

Das in **Fig. 3** und in Vergrößerung in den **Fig. 4** und **5** dargestellte Ventil **60** regelt den Fluß von der Reaktionskammer **6** über die Kanäle **42**, **70** zur Reinigungskammer **8**. Das Ventil **60** weist einen Druckraum **93** mit sich zur Grenzfläche der beiden Wafer **2**, **4** verjüngendem Querschnitt auf. Der Druckraum **93** wird außenseitig von einer auf der Außenseite des ersten Wafers **2** aufliegenden Deckfolie **94** begrenzt, welche beispielsweise auch die Einlaßöffnung **56** (**Fig. 3**) und die übrigen Einlaßöffnungen bedeckt. Die Deckfolie **94** weist eine Öffnung **96** auf, an welcher beispielsweise eine Saug- und/oder Druckpumpe (nicht dargestellt) anschließbar ist, um den Druck im Druckraum **93** zu erhöhen bzw. zu erniedrigen. Der Deckfolie **94** gegenüber ist ein Waferabschnitt angeordnet, welcher als dünne Membran **95** ausgebildet ist und einen flexiblen Umfangsabschnitt der Kanäle **40**, **72** darstellt. Bei Druckbeaufschlagung des Druckraums **93** oder bei Umgebungsluftdruck legt sich die Membran an eine Erhebung **97** an, welche die Aussparungen für die beiden Kanäle **42**, **70** trennt. Bei Drucker-niedrigung oder Unterdruck im Druckraum **93** hebt sich die Membran **95** (**Fig. 5**) und gibt die Verbindung zwischen den Kanälen **42**, **70** frei.

Der erste Wafer **2** hat im Bereich der Reinigungskammer **8** eine äußere Aussparung **14**, deren Form im wesentlichen

der Aussparung **10** im Bereich der Reaktionskammer **6** gleicht. Die Reinigungskammer **8** weist ebenfalls – analog zu den entsprechenden Elementen der Reaktionskammer **6** – einen in einer elektrischen Isolierschicht **26** eingebetteten Heizleiter **27** und entsprechende Verbindungsleitungen **29** zu Anschlußkontakten **28** auf dem ersten Wafer **2** auf.

Auf der Außenseite des zweiten Wafers **4** ist im Bereich der Reinigungskammer **8** eine Elektromagnetspule **98** angeordnet, welche beispielsweise in einem oberflächenmontiertem Bauteil (surface mounted device) integriert ist und an nicht dargestellten Zuleitungen angeschlossen ist. Bei Stromfluß durch die Magnetspule **98** wird ein inhomogenes magnetisches Feld in der Reinigungskammer **8** erzeugt.

Die in **Fig. 2** dargestellte Ausführungsform weist – in Erweiterung der schematischen Darstellung der **Fig. 1** – ein erweitertes, zwischen den beiden Wafers **2, 4** angeordnetes Kanalsystem stromaufwärts der Reaktionskammer **6** auf. Zusätzlich zu der Einlaßöffnung **56** für die Ausgangs-DNA und der Einlaßöffnung **59** für eine Spüllösung, wie beispielsweise Wasser oder einem Glycin/HCl-Puffer, ist eine separate Einlaßöffnung **58** für die zur PCR notwendigen Reagenzien vorgesehen. Vorzugsweise sind computergesteuerte Ventile **50–52** zur Durchlaßregulierung der einzelnen Lösungen in den zum Kanal **40** hinführenden Kanälen **46–49** angeordnet. Eine ansteuerbare Mischvorrichtung **45** in dem eintragenden Kanal **40** zwischen der Reaktionskammer **6** und dem stromaufwärts nächstliegenden Ventil **50** dient zur optionalen Durchmischung von Lösungen, welche gleichzeitig oder nacheinander mittels der Kanäle **46–49** zugeführt werden. Zwischen der Mischvorrichtung **45** und der Reaktionskammer **6** kann zusätzlich ein nicht dargestelltes Ventil vorgesehen sein, das gegebenenfalls nur durchmischte Lösungen zur Reaktionskammer **6** passieren läßt.

In ähnlicher Weise ist der Reinigungskammer **8** ein erweitertes Kanalsystem mit mehreren – in der Ausführungsform gemäß der **Fig. 2** drei – separaten Einlaßöffnungen **84–86** vorgeschaltet. Durch die Einlaßöffnung **84** ist beispielsweise eine Suspension magnetischer Partikel über die Kanäle **74, 77, 71** der Reinigungskammer **8** zuführbar. An den magnetischen Partikeln sind vorzugsweise Streptavidin-Gruppen angelagert, welche in der Reinigungskammer an Biotin- oder Avidin-Gruppen binden, die an den Primersequenzen der amplifizierten DNA-Moleküle angelagert sind. Wird die die Reaktionskammer **6** verlassende Lösung, welche die amplifizierten DNA-Moleküle sowie die restlichen, die PCR unterstützenden Reagenzien sowie Puffer- und Aktivatormoleküle enthält, bei gleichzeitig angeschaltetem Magnetfeld der Magnetspule **98** durch die Reinigungskammer **8** geleitet, werden die magnetischen Partikel mit den an diesen gebundenen DNA-Molekülen in der Reinigungskammer **8** zurückgehalten, während die anderen, nichtmagnetischen Moleküle ausgespült werden. Nachfolgend kann durch die Einlaßöffnung **86** des Kanals **76** und über den Kanal **71** eine Elutionslösung in die Reinigungskammer **8** geleitet werden, welche – bei nun vorzugsweise abgeschaltetem Magnetfeld – eine vorgegebene Zeit in der Reinigungskammer **8** verbleibt und die magnetischen Partikel und die daran haftenden DNA-Moleküle voneinander löst. Vorzugsweise wird das Magnetfeld lediglich zur Separation der DNA-Moleküle von den magnetischen Partikeln abgeschaltet. Vor Ausleiten der DNA-Abschnitte wird das Magnetfeld wieder aktiviert, damit die magnetischen Partikel möglichst nicht mit den DNA-Abschnitten herausgespült werden. Eine dritte Einlaßöffnung **85** zur Zuführung einer Spüllösung, wie beispielsweise Wasser oder einem Glycin/HCl-Puffer, ist über die Kanäle **75, 77, 71** ebenfalls mit der Reinigungskammer **8** verbunden. Der Zufluß durch die verschiedenen Kanäle zur Reinigungskammer **8** wird von steuerbaren Ventilen

80–82 geregelt.

Das in den **Fig. 6** und **7** dargestellte Ventil **80** – ebenso wie die Ventile **50, 51, 82** – unterscheidet sich von dem in den **Fig. 4** und **5** gezeigten Ventil **60** im wesentlichen darin, daß zwei zulaufende Kanäle **76, 77** in unmittelbarer Nähe des Ventils **80** in einen ablaufenden Kanal **71** münden. Der Kanal **77**, der in den **Fig. 6** und **7** senkrecht zur Zeichenebene verläuft, ist permanent mit dem Kanal **71** verbunden und nicht mittels des Ventils **80** regelbar. Hingegen ist im Kanal **76** unmittelbar stromaufwärts der Mündung in den Kanal **71** eine Erhebung **97** angeordnet, welche in dem zweiten Wafer **4** ausgebildet ist und einen festen Umfangsabschnitt des Kanals **76** bildet. In Schließstellung des Ventils **80** liegt – analog dem Ventil **60** der **Fig. 4** und **5** – eine flexible Membran **95** auf der Erhebung **97**, welche als dünne Schicht des zweiten Wafers **2** ausgebildet ist und einen flexiblen Umfangsabschnitt des Kanals **76** und ebenfalls der Kanäle **77, 71** bildet. In Offenstellung hebt sich die Membran **95** von der Erhebung **97** ab und läßt durch den Kanal **76** zugeführte Elutionslösung in den Kanal **71** und auch in den Kanal **77** strömen. Zur Ventilbetätigung dient, ähnlich dem Ventil **60**, ein mit Druck beaufschlagbarer Druckraum **93** oberhalb der Membran **95** (bezogen auf die **Fig. 6** und **7**). Elutionslösung, die bei geschlossenen Ventilen **81, 82** in den Kanal **77** strömt, ist unschädlich, da – nach Schließen des Ventils **80** – über den Einlaß **85** zugegebene Spüllösung diese geringen Mengen mitführt und über den Kanal **71** zur Reinigungskammer **8** und von dort aus weiterleitet. Auf diese Weise wird die Elutionslösung mittels der Spüllösung vollständig aus der Vorrichtung **1** ausgetragen. Rückstände der Elutionslösung können sich nicht ablagern. Auf gleiche Weise wird z. B. mittels des Ventils **50** gewährleistet, daß über den Kanal **46** zugeführte Ausgangs-DNA vollständig in die Reaktionskammer **6** gelangt.

Gegebenenfalls weisen die Ventile **50, 51, 80, 82** eine zusätzliche Membran sowie einen zusätzlichen, separat beaufschlagbaren Druckraum zur Regelung auch des anderen zulaufenden Kanals auf (nicht dargestellt).

In der in **Fig. 2** dargestellten Ausführungsform sind zwei die Reinigungskammer **8** verlassende Kanäle **72, 73** vorgesehen, die jeweils über ein Ventil **88, 89** kontrollierbar sind. Der eine austragende Kanal **73** mündet in einen Abfallauslaß **87**, durch welche eine durch die Reinigungskammer **8** und ggf. durch die Reaktionskammer **6** geleitete Spüllösung abgeführt wird. Dem anderen, zur Austragung der amplifizierten DNA-Moleküle dienenden Kanal **72** ist eine piezoelektrische Pumpe **90** zwischengeschaltet, welche die in der Elutionslösung gelösten DNA-Moleküle durch den Auslaß **99** konzentriert beispielsweise auf eine dünne Schicht **100** aufträgt, welche bei einer anschließenden massenspektrometrischen DNA-Bestimmung durch Ionisierung mit matrixunterstützter Laserdesorption in einem Flugzeitmassenspektrometer in bekannter Weise verwendbar ist.

Patentansprüche

1. Mikrosystemtechnische Vorrichtung (**1**) zur DNA-Amplifizierung mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR), mit einem ersten Wafer (**2**) und einem mit dem ersten Wafer (**2**) sandwichartig verbundenen zweiten Wafer (**4**), einer Reaktionskammer (**6**) zwischen den Wafers (**2, 4**), mindestens einem in die Reaktionskammer (**6**) mündenden, eintragenden Kanal (**40**) und einem von der Reaktionskammer (**6**) abgehenden, austragenden Kanal (**42**), und einer Heizvorrichtung (**23, 24, 25**) zum Aufheizen und

einer Kühlvorrichtung (36, 37) zum Abkühlen der Reaktionskammer (6),
dadurch gekennzeichnet, daß der erste und/oder der zweite Wafer (2, 4) im Bereich der Reaktionskammer (6) eine Aussparung (10, 12) auf seiner Außenseite aufweist. 5

2. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß innenseitige Aussparungen in dem ersten und/oder zweiten Wafer (2, 4) den Hohlraum der Reaktionskammer (6) bilden. 10

3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, gekennzeichnet durch innenseitige Aussparungen in dem ersten und/oder zweiten Wafer (2, 4) zur Bildung von zur Reaktionskammer (6) hinführenden und ggf. von der Reaktionskammer (6) fortführenden Kanälen (40, 42, 46–48). 15

4. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß sich die außenseitigen Aussparung(en) (10, 12) im wesentlichen über die gesamte zur Außenseite projizierten Fläche der Reaktionskammer (6) erstreckt. 20

5. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Heizvorrichtung (23, 24, 25) mindestens einen Heizleiter (23) umfaßt, welcher in der Reaktionskammer (6) angeordnet ist. 25

6. Vorrichtung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß der Heizleiter (23) in einer elektrisch isolierenden Schicht (20) in der Reaktionskammer (6) eingebettet ist. 30

7. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Kühlvorrichtung (36, 37) eine oder mehrere Düsen (36) im Bereich der außenseitigen Aussparung(en) (10, 12) zur Konvektionskühlung der Waferoberfläche umfaßt. 35

8. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Kühlvorrichtung (36, 37) Kühlrippen (37) in der/den außenseitigen Aussparung(en) (10, 12) umfaßt.

9. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, gekennzeichnet durch stromaufwärts der Reaktionskammer (6) angeordnete Kanäle (46–49) zur Zuführung von DNA-Lösungen, Reaktionslösungen und/oder Spüllösungen. 40

10. Vorrichtung nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß eine Mischvorrichtung (45) in einem eintragenden Kanal (40) angeordnet ist, in welchen stromaufwärts der Mischvorrichtung (45) mindestens zwei Kanäle (46–49) münden. 45

11. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß pneumatisch betriebene Ventile (50, 51, 52) und/oder Pumpen zur Durchlaßregulierung der Kanäle (40, 42, 46–49) in die Anordnung der Wafer (2, 4) integriert sind. 50

12. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die inneren Oberflächen der Reaktionskammer (6) sowie ggf. der Kanäle (40, 42, 46–49) zur Vermeidung von Wechselwirkungen mit in den Lösungen suspendierten Molekülen inertisiert sind. 55

13. Mikrosystemtechnische Vorrichtung, insbesondere nach einem der Ansprüche 1 bis 12, welche zwei sandwichartig verbundene erste und zweite Wafer (2, 4) und eine Reaktionskammer (6) zur DNA-Amplifizierung mittels einer PCR-Reaktion zwischen den Wafern (2, 4) umfaßt, gekennzeichnet durch eine Reinigungskammer (8) zwischen den beiden Wafern (2, 4) zur Aufreinigung der amplifizierten DNA-Moleküle, mindestens 60

einen in die Reinigungskammer (8) mündenden, eintragenden Kanal (70), der mit einem austragenden Kanal (42) der Reaktionskammer (6) verbunden ist, und mindestens einen von der Reinigungskammer (8) abgehenden, austragenden Kanal (72, 73).

14. Vorrichtung nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß innenseitige Aussparungen in dem ersten und/oder zweiten Wafer (2, 4) den Hohlraum der Reinigungskammer (8) bilden.

15. Vorrichtung nach Anspruch 13 oder 14, gekennzeichnet durch innenseitige Aussparungen in dem ersten und/oder zweiten Wafer (2, 4) zur Bildung von zur Reinigungskammer (8) hinführenden bzw. von der Reinigungskammer (8) fortführenden Kanälen (70–77).

16. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 13 bis 15, gekennzeichnet durch einen stromaufwärts der Reinigungskammer (8) angeordneten Kanal (74) zur Zuführung einer Suspension magnetischer Partikel, welche angelagerte Streptavidin-Gruppen zur Bindung an Biotin- oder Avidin-Gruppen aufweisen, welche an Primersequenzen eines amplifizierten DNA-Moleküls angelagert sind.

17. Vorrichtung nach Anspruch 16, gekennzeichnet durch mindestens einen Magneten (98) im Bereich der Reinigungskammer (8) zur Immobilisierung der an den magnetischen Partikeln haftenden DNA-Moleküle.

18. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 13 bis 17, dadurch gekennzeichnet, daß die Oberflächen der Reinigungskammer (8) weitgehend dauerhaft mit Streptavidin-Gruppen belegt sind, an welche jeweils an Primersequenzen eines amplifizierten DNA-Moleküls angelagerte Biotin- oder Avidin-Gruppen binden.

19. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 13 bis 18, gekennzeichnet durch stromaufwärts der Reinigungskammer (8) angeordnete Kanäle (71, 75–77) zur Zuführung von Elutionslösungen zur Trennung der DNA-Moleküle von den die Streptavidin-Gruppen aufweisenden Partikeln bzw. Kammeroberflächen und/oder zur Zuführung von Spüllösungen zur Spülung der Reinigungskammer (8).

20. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 13 bis 19, gekennzeichnet durch eine Heizvorrichtung (27, 28, 29), insbesondere wie in den Ansprüchen 5 und 6 beschrieben, und/oder eine Kühlvorrichtung, insbesondere wie in den Ansprüchen 7 und 8 beschrieben, im Bereich der Reinigungskammer (8) sowie pneumatisch betriebene Ventile, insbesondere wie in Anspruch 12 beschrieben, und/oder Pumpen zur Durchlaßregulierung der Kanäle (70–77).

21. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 13 bis 20, dadurch gekennzeichnet, daß der erste und/oder der zweite Wafer (2, 4) im Bereich der Reinigungskammer (8) eine Aussparung (14) auf seiner Außenseite aufweist.

22. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 13 bis 21, gekennzeichnet durch eine piezoelektrische Pumpe (90) in einem austragenden Kanal (72) der Reinigungskammer (8).

23. Mikrosystemtechnische Vorrichtung (1), insbesondere nach einem der Ansprüche 1 bis 22, mit einem ersten Wafer (2) und einem mit dem ersten Wafer (2) sandwichartig verbundenen zweiten Wafer (4), und mit innenseitigen Aussparungen in dem ersten und/oder zweiten Wafer (2, 4) zur Bildung von Kanälen (40, 42, 46–49, 70–77) zwischen den beiden Wafern (2, 4), gekennzeichnet durch mindestens ein Ventil (50; 51; 80; 82) im Bereich des Zusammenlaufs eines ersten Kanals (46; 48; 76; 74) und eines zweiten Kanals (47;

49; 77; 75) zu einem dritten Kanal (40; 47; 71; 77), und durch eine als flexible Schicht des ersten oder zweiten Wafers (2, 4) ausgebildete Membran (95), die einen flexiblen Umfangsabschnitt der Wandung des ersten Kanals (46; 48; 76; 74) bildet, wobei sich der flexible Umfangsabschnitt in Schließstellung des Ventils (50; 51; 80; 82) gegen einen gegenüberliegenden festen Umfangsabschnitt der Wandung des ersten Kanals (46; 48; 76; 74) anlegt und sich in Offenstellung des Ventils (50; 51; 80; 82) von dem festen Umfangsabschnitt (97) abhebt.

24. Vorrichtung nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, daß der feste Umfangsabschnitt eine Erhebung (97) des ersten oder zweiten Wafers (2, 4) zwischen den Aussparungen für den ersten Kanal (46; 48; 76; 74) einerseits und für den zweiten (47; 49; 77; 75) und dritten Kanal (40; 47; 71; 77) andererseits aufweist, an welcher die Membran (95) in Schließstellung des Ventils (50; 51; 80; 82) dichtend zur Anlage kommt.

25. Vorrichtung nach Anspruch 23 oder 24, gekennzeichnet durch einen Druckraum (93) auf der kanalabgewandten Seite der Membran (95), wobei sich die Membran (95) bei Beaufschlagung des Druckraums (93) mit einem Überdruck an dem festen Umfangsabschnitt anlegt und bei Anlegen eines Unterdrucks in dem Druckraum (93) von dem festen Umfangsabschnitt abhebt.

26. Vorrichtung nach Anspruch 25, gekennzeichnet durch eine den Druckraum (93) abdeckende Deckfolie (94), welche eine Öffnung (96) zum Anschluß einer Saug- und/oder Druckpumpe aufweist.

Hierzu 5 Seite(n) Zeichnungen

35

40

45

50

55

60

65

- Leerseite -

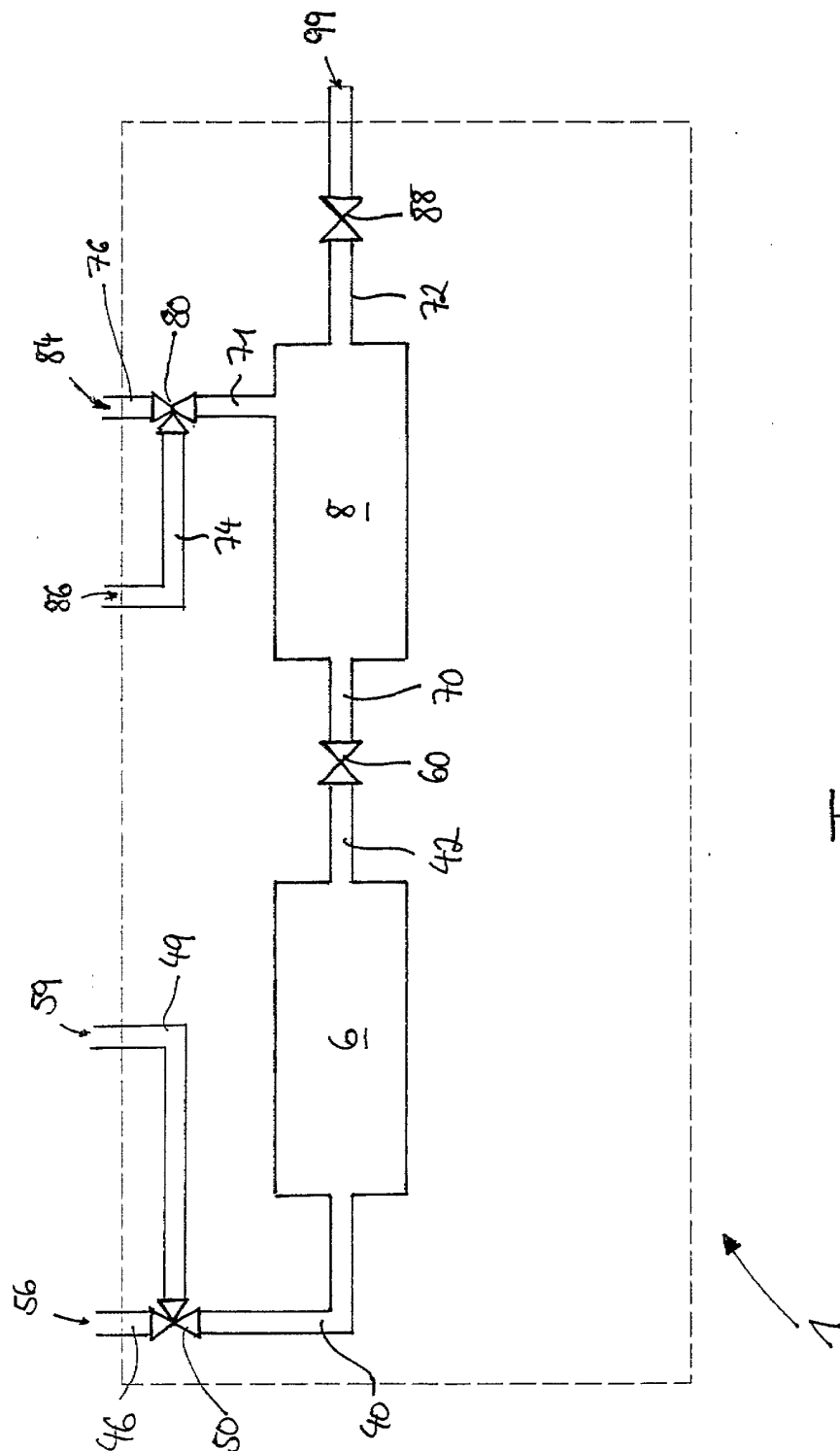
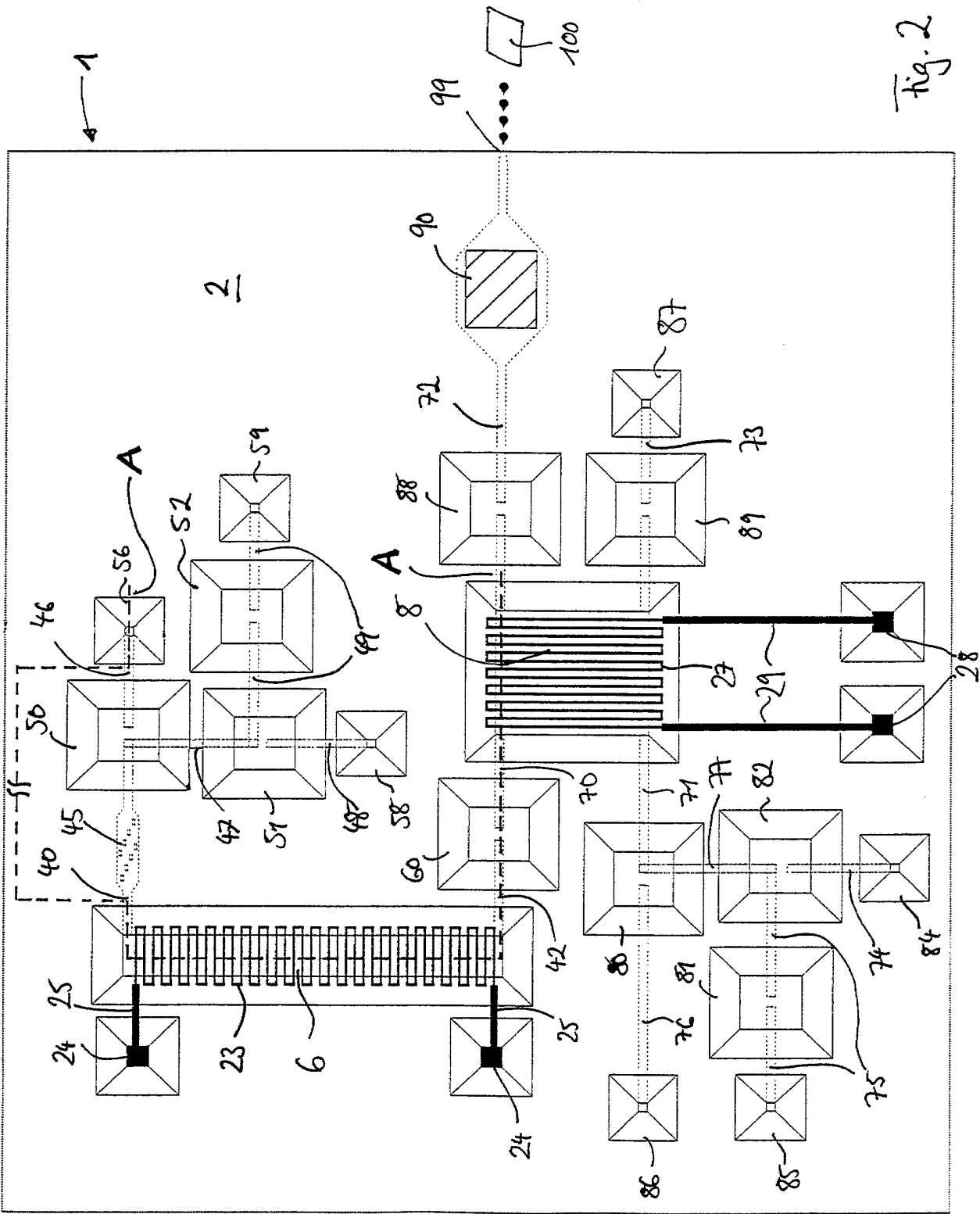
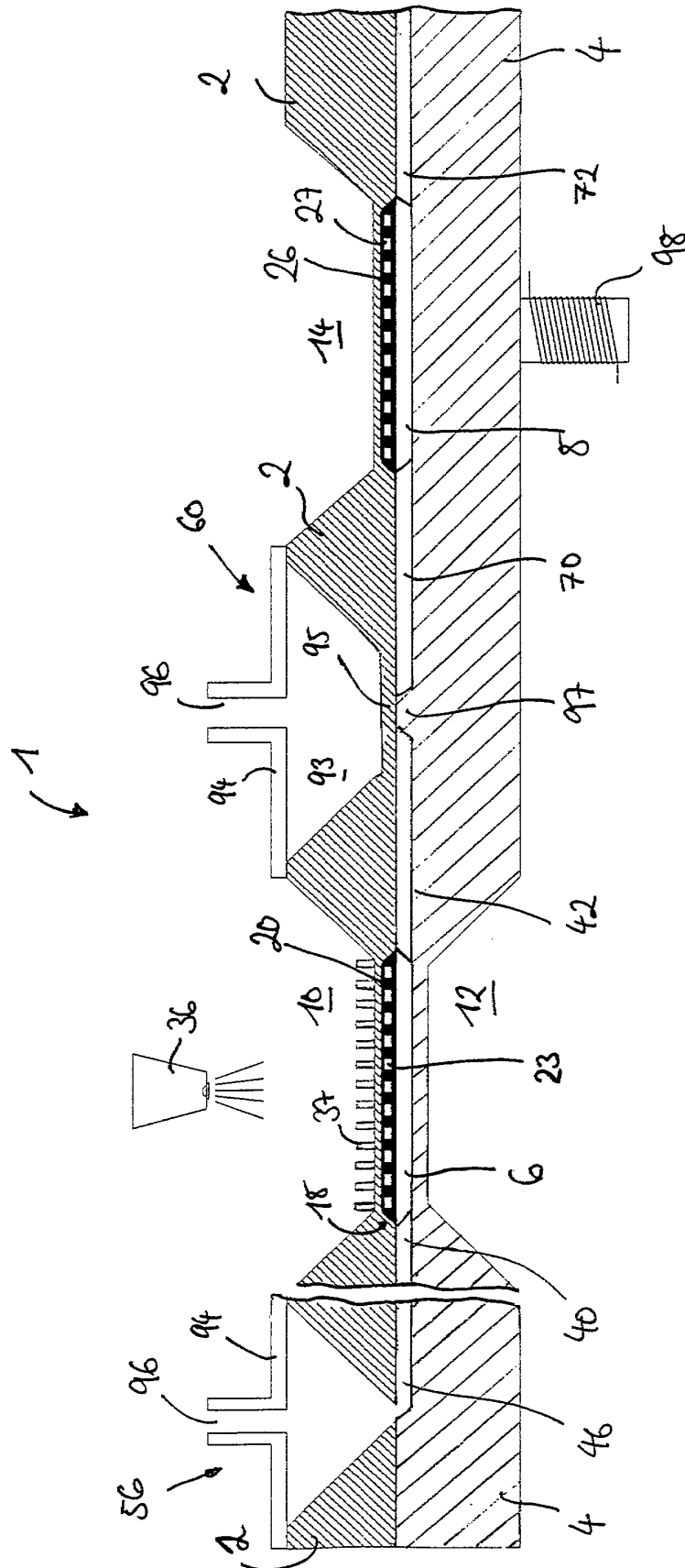


Fig. 1





3
fig.

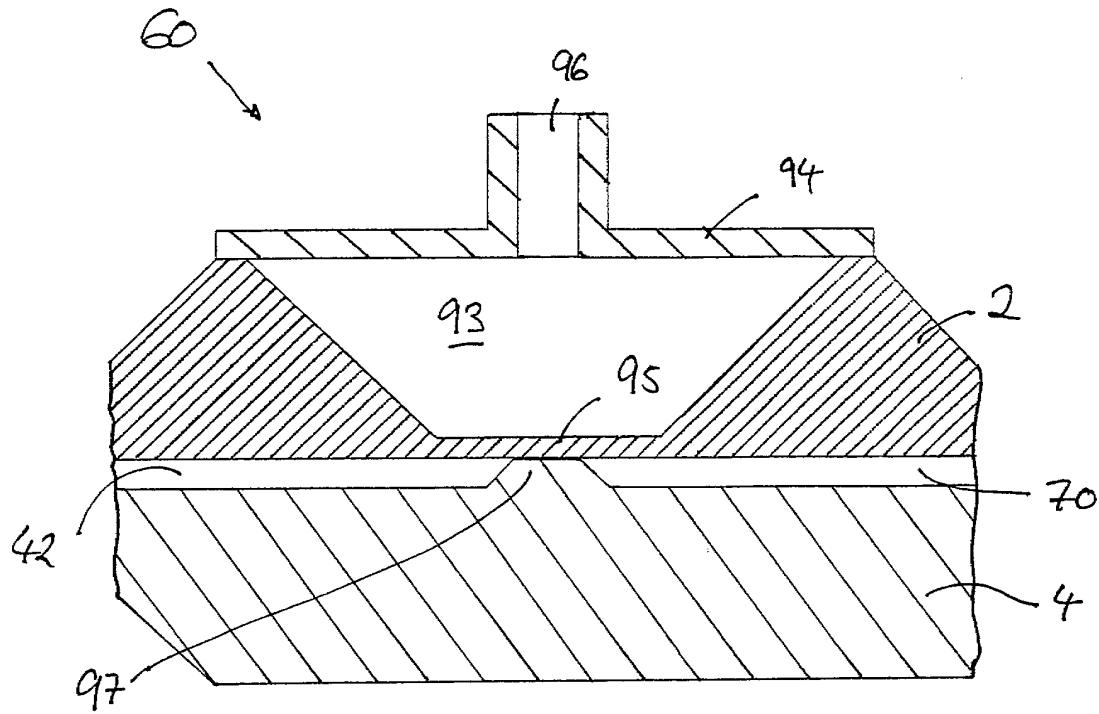


Fig. 4

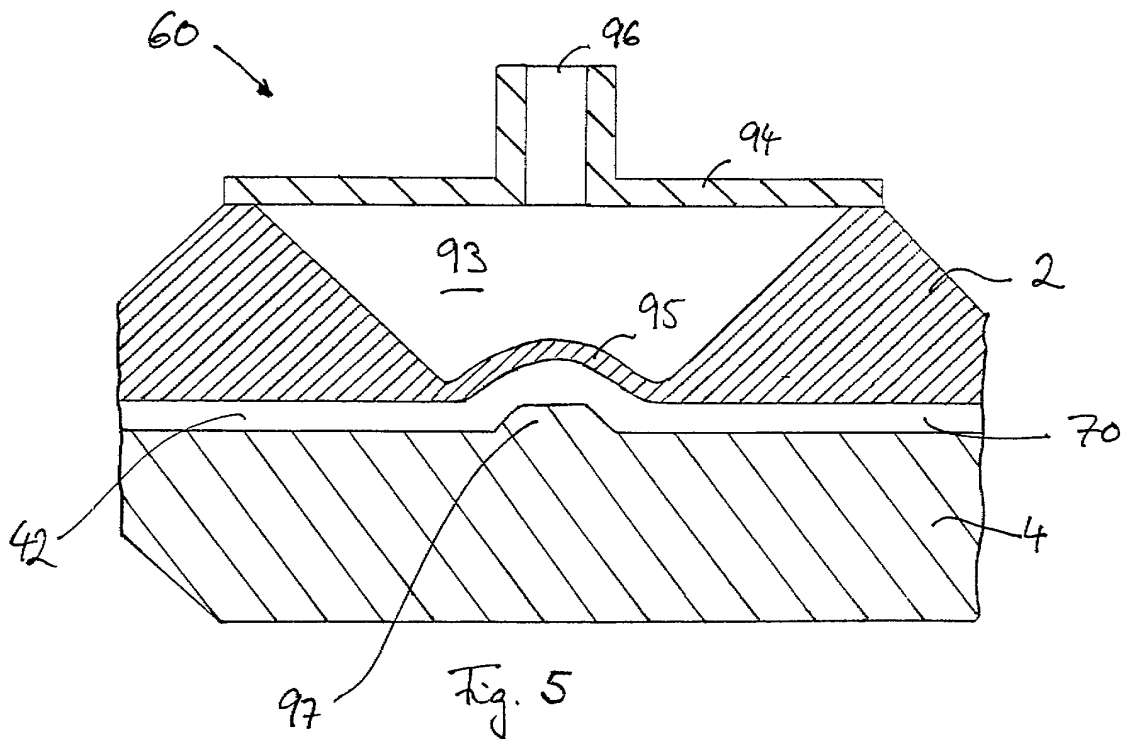


Fig. 5

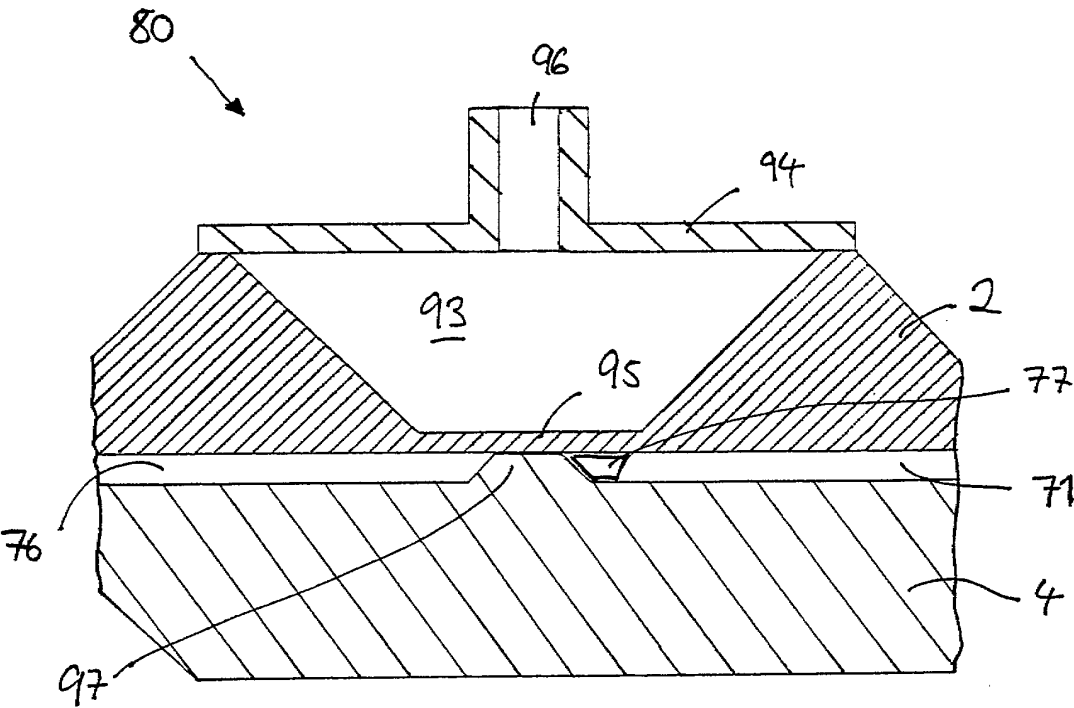


Fig. 6

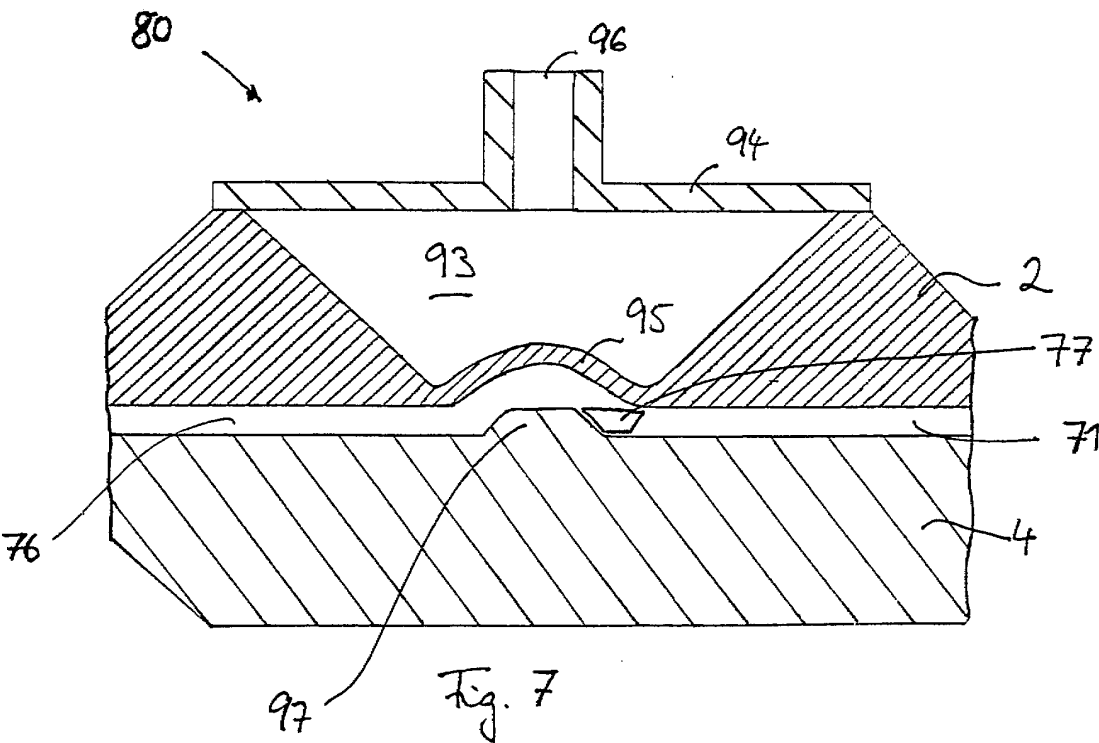


Fig. 7